

BIOTRANSFORMACE VOJENSKÝCH TRHAVIN A MOŽNOSTI JEJICH IDENTIFIKACE A STANOVENÍ

BIOTRANSFORMATION OF MILITARY EXPLOSIVES AND POSSIBILITIES OF THEIR IDENTIFICATION AND DETERMINATION

Lenka FIŠEROVÁ, Zdeněk FRIEDL, Josef KELLNER
lenka.fiserova@unob.cz, friedl@fch.vutbr.cz, josef.kellner@unob.cz

Došlo 29. 5. 2012, přepracováno 26. 9. 2012, upraveno 26. 11. 2012, přijato 28. 11. 2012.
Dostupné na [http://www.population-protection.eu/
attachments/044_vol4n4_fiserova_friedl_kellner.pdf](http://www.population-protection.eu/attachments/044_vol4n4_fiserova_friedl_kellner.pdf).

Abstract

The article is focused on assessing the biotransformation process of selected military explosives. Due to the problems concerning the possibility of their identification and semiquantitative determination, the work has been completed with the use of the analyzer of explosives developed by our research team. The verification of device functionality has been implemented with the most frequently used military explosives, such as hexogen and octogen.

Key words

Biotransformation, military explosives, analyzer of explosives.

1 Úvod

Při řešení projektu obranného výzkumu „Analyzátor výbušnin na mikrofluidním principu“ je jedním z hlavních cílů identifikace širokého spektra nitrosloučenin, které jsou součástí vojenských trhavin, ale také jejich možných rozkladných produktů, které vznikají nejen při výbuchu, ale také v procesu jejich rozkladu v životním prostředí.

Jedním z hlavních cílů předložené práce je tedy literární průzkum možných rozkladných procesů rychlosti a podmínek jejich průběhu a zejména zjištění hlavních produktů biodegradace [1]. Vojenské trhaviny a další nitrosloučeniny představují široce rozšířené kontaminanty životního prostředí. Jejich výskyt je typický na území výrobních závodů, delaboračních provozů, vojenských výcvikových prostorů a skladů. Vojenské trhaviny, jako trinitrotoluen (TNT), hexogen (RDX) a oktogen (HMX), jsou obtížně biodegradovatelné a po dlouhou dobu přetrvávají v půdách nebo ve spodních vodách.

Naopak pesticidy na bázi aromatických nitrosloučenin, jako Dinoseb, Dinitrokrezol, Parathion, Methylparathion aj., jsou biodegradovatelné půdními

bakteriemi a neakumulují se ve složkách životního prostředí, pokud jejich koncentrace nepřekročí asimilační kapacitu ekosystému.

Výzkum provedený za posledních 20 let přinesl velké množství informací o možnosti biotransformace a biodegradace vojenských trhavin. Hlavní zájem se soustřeďuje na identifikaci a charakterizaci rostlinných genů zapojených v detoxifikaci TNT a na konstrukci a pochopení biochemických cest degradace RDX a HMX pomocí mikroorganismů [1].

2 Soudobé vojenské trhaviny

Vojenské trhaviny (obecně energetické materiály, EM) jsou chemické sloučeniny nebo směsi látek, jejichž exotermní rozklad probíhá za uvolňování energie. Podle obsahu vnitřní energie a rychlosti výbušného rozkladu se EM obvykle rozdělují na:

- Třaskaviny
- Sekundární výbušniny
- Terciární výbušniny
- Hnací hmoty (propelenty)
- Pyrotechnické složky

Pozornost bude věnována výhradně sekundárním výbušninám používaným ve vojenském sektoru – vojenským trhavinám.

Vojenské trhaviny

Vojenské trhaviny jsou ve většině případů směsné trhaviny. V současnosti je do munice laborován jako takový, bez dalších úprav, pouze TNT. Výhodné fyzikálně-chemické vlastnosti TNT (t.t. \square 80 °C), vysoká stabilita a relativně nízká citlivost i v roztaveném stavu předurčuje využití TNT k přípravě litelných směsí.

*Tabulka 1
Hlavní směsné litelné vojenské trhaviny na bázi TNT [2]*

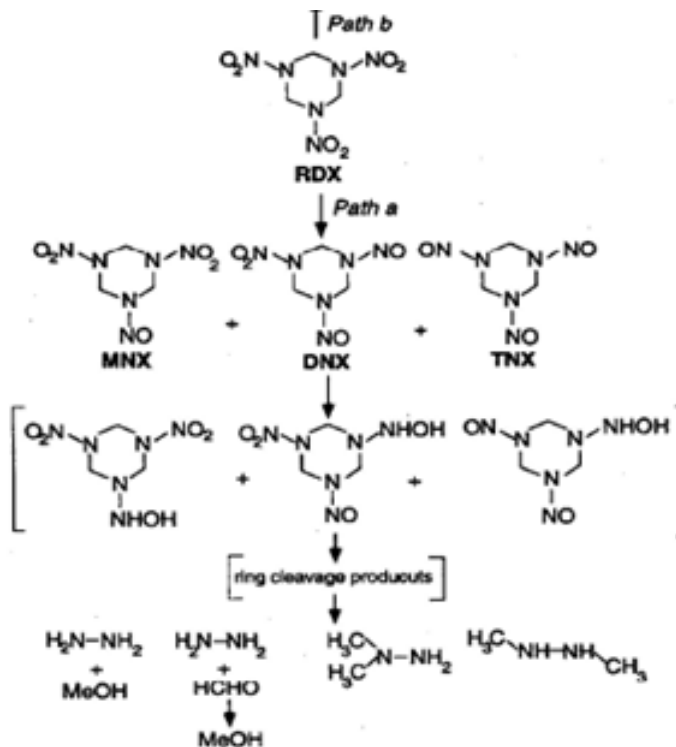
Označení	% TNT	% RDX	% HMX	% Al	% AN
Hexotol	25-50	50-75	-	-	-
Composition B	36-40	60-64	-	-	-
Oktol	25-30	-	70-75	-	-
Torpex	40	42	-	18	-
HBX 1	29-38	35-45	-	7-35	-
Amatex	40	20-30	-	-	30-40
DBX	40	21	-	18	21

Pozn. AN – dusičnan amonný

Nejsou dostupné jakékoliv informace o biotransformaci směsných litelných vojenských trhavin na bázi vojenských trhavin [1]. Lze předpokládat, že jednotlivé složky těchto trhavin se budou vyskytovat v rozdílných složkách životního prostředí. TNT jako lipofilní látka se bude nejvíce adsorbovat v půdních maticích, naopak RDX a HMX jako hydrofilní látky budou půdou difundovat do podzemních vod.

3 Příklad biodegradace RDX

Při metabolické biodegradaci RDX za anaerobních podmínek dle schématu, které bylo navrženo Hawarim, probíhá redukce RDX na nitrosoderiváty ještě před otevřením kruhu a současně dochází k tvorbě hydrazinů [3].



Obr. 1
Biodegradční cesty anaerobního rozkladu RDX [3]

4 Stanovení výbušnin ve vojenských výcvikových prostorech

V současnosti existuje velký zájem o nalezení nových metod detekce a identifikace výbušnin na bázi nitraminů a nitroesterů. Jedním z důvodů tohoto zájmu je kontaminace životního prostředí těmito látkami, zejména vojenských výcvikových prostorů, a negativní dopady energetických sloučenin na zdraví osob. Další důvod tohoto zájmu představují bezpečnostní rizika, která energetické sloučeniny představují, zejména ve spojitosti s terorismem [4,5].

Problémové jsou také odběry vzorků v reálném prostředí, které jsou náročné na kvalifikované techniky odběru, a zakoncentrování vzorků a jejich transport do laboratoře a další zpracování v kontrolovaném prostředí tak, aby bylo dosaženo co nejlepších výsledků [6]. Důvodem jsou nízké koncentrace výbušnin v reálných vzorcích / 10 ppb pro TNT / [7] umožňující následně pouze úzký výběr vhodného způsobu detekce a stanovení.

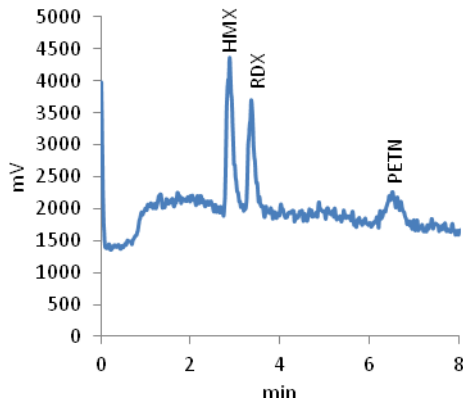
Proto bylo v rámci řešení projektu obranného výzkumu vyvinuto přenosné zařízení pro rychlou analýzu energetických materiálů v životním prostředí, které je sestavené z originálně vyvinutých částí, tj. automatického mikrokolonového kapalinového chromatografu s jednoduchou konstrukcí a miniaturizovaného UV reduktoru a chemiluminiscenčního detektoru [8].

5 Ověření činnosti analyzátoru

K ověření správné funkce zařízení byla použita směs hexogenu (RDX, v koncentraci 1×10^{-7} mol.dm⁻³), oktogenu (HMX, 1×10^{-7} mol.dm⁻³) a pentritu (PETN, 1×10^{-6} mol.dm⁻³). Vzorek o objemu 10 ul byl vstříknut do kolony. Mobilní fáze se skládala z 55 % v / v metanolu ve vodě, byla nastavena velikost průtoku 6,5 ul / min. Separace byla provedena za použití kolony Zorbax SB-C18, 0,5 x 35 mm naplněné o 3,5 um částic. Stanovení probíhalo při laboratorní teplotě. Analýzy se neustále opakovaly po dobu 5 hodin, aby se prokázala reprodukovatelnost výsledků.

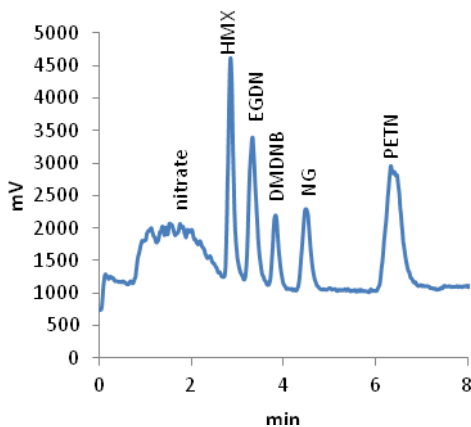
Poté bylo testování rozšířeno i na jiné nitraminy a nitroestery z oblasti vojenských trhavin a jejich značkovačů. Byly použity standardní roztoky 2,4,6-trinitrofenylmetylnitramin (TETRYL, $3,5 \times 10^{-7}$ mol.dm⁻³), nitroglycerin (NG, 1×10^{-6} mol.dm⁻³), etylenglykoldinitrát (EGDN, 1×10^{-6} mol.dm⁻³) a 2,3 - dimetyl-2,3-dinitrobutan (DMDNB, 5×10^{-6} mol.dm⁻³). Testování proběhlo také za výše uvedených podmínek.

Chromatografické dělení směsi HMX, RDX a PETN je znázorněno na obr. 2, separace ostatních vojenských trhavin včetně kyseliny dusičné je znázorněna na obr. 3. Limity detekce (LOD) (tabulka 2) všech zájmových sloučenin jsou v rozmezí koncentrací od 1×10^{-7} mol.dm⁻³ až 5×10^{-9} mol.dm⁻³.



Obr. 2

Separace směsi HMX, RDX $1 \times 10^{-7} \text{ mol.dm}^{-3}$ a PETN $1 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$



Obr. 3

Separace směsi obsahující dusičnany $5 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$, EGDN, NG $1 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$ a DMDNB $5 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$

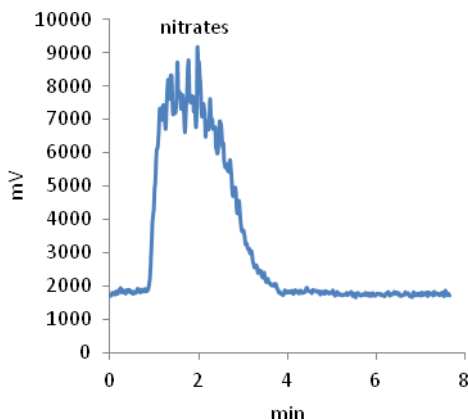
Tabulka 2

Vypočtené limity detekce ($s/n = 3$)

Sample	LOD [mol.dm^{-3}]	Sample	LOD [mol.dm^{-3}]
$-\text{NO}_3^-$	7.5×10^{-7}	DMDNB	9.4×10^{-7}
HMX	5.0×10^{-9}	EGDN	1.5×10^{-7}
RDX	1.5×10^{-8}	NG	1.5×10^{-7}
		PETN	3.8×10^{-7}

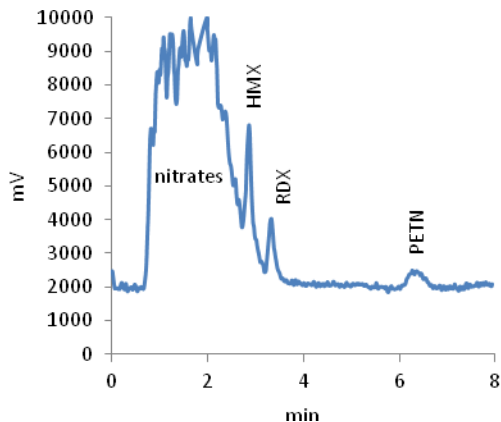
6 Stanovení vojenských trhavin v reálných vzorcích půd

Vhodnost systému pro analýzu reálných vzorků byla ověřena s využitím vzorku půdy neobsahujícího žádné energetické sloučeniny, do kterého byly přidány jako standardy roztoky HMX, RDX (oba $1 \times 10^{-7} \text{ mol.dm}^{-3}$) a PETN ($1 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$). Malé množství odebrané půdy (cca 1 cm^3) se extrahuje 10 ml 10 % v / v metanolu ve vodě (ruční třepání po dobu 2 minut v 20 ml lahvičce), roztok se následně zfiltruje a analyzuje. Vzorky reálných půd získaných z míst, kde se předpokládá jejich výskyt v půdě, byly připraveny stejným způsobem.



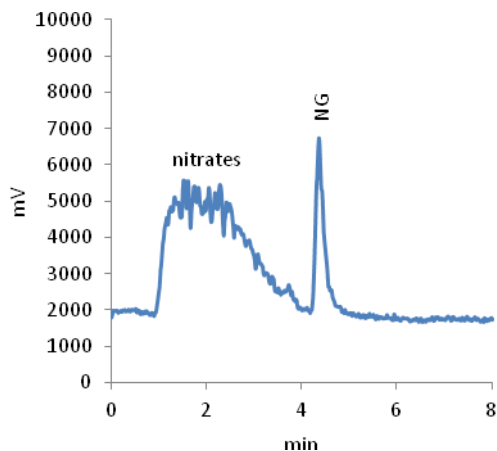
Obr. 4

Chromatogram extraktu energetických materiálů z půdy s detekovanými dusičnany



Obr. 5

Chromatogram extraktu energetických materiálů z půdy s přidávanými standardy HMX, RDX a PETN



Obr. 6

Chromatogram extraktu reálného vzorku půdy; byly detekovány dusičnany a NG

7 Závěr

Publikace řeší problematiku biotransformačních procesů rozkladu vojenských trhavin v životním prostředí. Hlavní pozornost byla věnována nejběžnějším vojenským trhavinám, zejména hexogenu a oktogenu.

Vzhledem k tomu, že možnosti identifikace a stanovení těchto látek jsou omezeny neexistencí vhodných, dostatečně citlivých a selektivních analytických metod a zařízení, byla práce doplněna o námi vyvinutý originální analyzátor výbušnin. Toto zařízení bylo vyvinuto v rámci realizace projektu obranného výzkumu „Analyzátor výbušnin na mikrofluidním principu“. Jedná se o přenosný analyzátor výbušnin na mikrofluidním principu, sestávající se z miniaturizovaného kapalinového chromatografu a chemiluminiscenčního detektoru s velmi nízkým limitem detekce.

Verifikace zařízení byla realizována na reálných vzorcích získaných ve vojenském výcvikovém prostoru. Je možno konstatovat, že byla ověřena funkčnost přístroje, jeho aplikace na identifikaci a stanovení velmi nízkých koncentrací vojenských trhavin, který bylo možné aplikovat na posouzení biotransformace výbušnin v životním prostředí.

Literatura

- [1] FRIEDL, Z. *Biotransformace vojenských trhavin*. Brno: VUT Brno, 2011.
- [2] BREBERA, S. *Vojenské trhavinny a technologie výroby trhavinových náloží*. Pardubice: Univerzita Pardubice, FCHT, 2005.

- [3] HAWARI, J., S. BEAUDET, A. HALASZ, S. THIBOUTOT, G. AMPLEMAN. Microbial degradation of explosives: Biotransformation versus mineralization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2000, 54, 605-618.
- [4] HOLTOFF, E. L., D. N. STRATIS-CULLUM, M. E. HANKUS. A nanosensor for TNT detection based on molecularly imprinted polymers and surface enhanced raman scattering. *Sensors.* 2011, 11, 2700-2714.
- [5] HOUSTON, J. G., G. R. LOTFU. Dietary exposure of flathead minnows to the explosives TNT and RDX and to the pesticide DDT using contaminated invertebrates. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2005, 2, 286-292.
- [6] CROCKETT, A. B., H. D. CRAIG, T. F. JENKINS. Field Sampling and Selecting On-Site Analytical Methods for Explosives in Water. Report #EPA/600/S-99/002. Las Vegas, NV, USA: United States Environmental Protection Agency, 1999.
- [7] MARINOVIC, V., S. MARINOVIC, M. JOVANOVIĆ, J. JOVANOVIĆ, S. STRBAC. The electrochemical reduction of trinitrotoluene on a platinum wire modified by chemisorbed acetonitrile. *J. Electroanal. Chem.* 2010, 648, 1-7.
- [8] ŠESTÁK, J., Z. VEČEŘA, V. KAHLE, D. MORAVCOVÁ, P. MIKUŠKA, J. KELLNER, J. NAVRÁTIL. A novel portable device for fast analysis of energetic materials in the environment. In: *Proceeding of New Trends in Research of Energetic Materials NTREM 2012, Part II.* Pardubice: 2012, s. 860 – 865. ISBN: 978-80-7395-480-2.